

KÓD 11582 1 x 25 mL	KÓD 11534 1 x 40 mL
SKLADOVÁNÍ PŘI 2-8°C	
Reagenty pro měření koncentrace α -amylázy Pouze pro laboratorní <i>in vitro</i> use diagnostiku	



α -AMYLÁZA-EPS



IFCC

PRINCIP METODY

Amyláza katalyzuje hydrolýzu 4-nitrofenyl-maltoheptaosid-etylidenu na menší oligosacharidy, které jsou hydrolyzovány alfa-glukosidázou za uvolnění 4-nitrofenolu. Katalytická koncentrace je určena stupněm vzniku 4-nitrofenolu a měří se při 405 nm^{1,2}.

Obsah

	KÓD 11582	KÓD 11534
A. Reagent	1 x 20 mL	1 x 32 mL
B. Reagent	1 x 5 mL	1 x 8 mL

Složení

A. Reagent. HEPES 50 mmol/L, chlorid vápenatý 0,075 mmol/L, chlorid sodný 90 mmol/L, chlorid hořečnatý 13 mmol/L, α -glukosidáza > 4 U/mL, pH 7,1.
B. Reagent. HEPES 50 mmol/L, 4-Nitrofenyl-maltoheptaosid-etyliden 18 mmol/L, pH 7,1.

SKLADOVÁNÍ

Skladujte při 2-8°C. Reagent je stabilní do data expirace uvedené na štítku, pokud je těsně uzavřený a je zabráněno jeho kontaminaci během použití.

Známky zhoršení kvality:

Reagent: přítomnost částic, zákal, absorbance blanku větší jak 0,300 při 405 nm. (1 cm kvjeta).

Příprava reagentů

Pracovní reagent: Kvantitativně přelejte obsah lahvičky B do lahvičky A. Důkladně promíchejte. Ostatní objemy lze připravit smícháním: 4 mL Reagentu A + 1 mL Reagentu B. Stabilita pracovního roztoku je 20 dní při 2-8°C.

Přídavná zařízení

- Analyzátor, spektrofotometr nebo fotometr termostabilní při 30 nebo 37°C a s filtrem 405 nm.
- kvjeta s 1 cm světelnou cestou.

Vzorky

Serum, plazma nebo moč odebraná standardním způsobem.

α -Amyláza je v séru nebo v plazmě stabilní 1 měsíc při 2-8°C. Jako antikoagulant lze použít heparin, EDTA.

α -Amyláza je v moči je stabilní 1 měsíc při 2-8°C, jestliže je upraveno pH na 7 před skladováním.

POSTUP

- Vytemperujte pracovní reagent na pracovní teplotu.
- Pipetujte do označených zkumavek: (Poznámka 1, 2):

	Sérum nebo plazma		Moč	
	37°C	30°C	37°C	30°C
Pracovní Reagent	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL
Vzorek	30 μ L	60 μ L	15 μ L	30 μ L

- Promíchejte, nasajte do kvjety fotometru a zapněte stopky.
- Odečtěte počáteční absorbanci, pak jí odečítejte v minutových intervalech po dobu 3 minut.
- Vypočítejte rozdíl mezi následnými absorbancemi a průměrnou minutovou absorbancí ($\Delta A/\text{min}$).

VÝPOČET

Koncentrace α -Amylázy ve vzorku se vypočítá podle vzorce:

$$\Delta A/\text{min} \times \frac{Vt \times 10^6}{\epsilon \times T \times V_s} = \text{U/L}$$

Molární absorbance (ϵ) 4-nitrofenolu při 405 nm je 10600 a světelná délka (l) je 1 cm. Pro vzorky séra a plazmy jsou celkové reakční objemy (Vt) = 1,030 při 37°C a 1,060 při 30°C a objem vzorku (V_s) je 0,030 při 37°C a 0,060 při 30°C. Pro vzorky moče je celkový reakční objem (Vt) = 1,015 při 37°C a 1,030 při 30°C a objem vzorku (V_s) je 0,015 při 37°C a 0,030 při 30°C. 1 U/L odpovídá 0,0166 μ kat/L. Následující rovnice je pro výpočet katalytické koncentrace α -Amylázy:

		37°C	30°C
$\Delta A/\text{min}$	Sérum, plazma	$\times 3239 = \text{U/L}$ $\times 53,8 = \mu\text{kat/L}$	$\times 1667 = \text{U/L}$ $\times 27,7 = \mu\text{kat/L}$
	Moč	$\times 6384 = \text{U/L}$ $\times 105,9 = \mu\text{kat/L}$	$\times 3239 = \text{U/L}$ $\times 53,8 = \mu\text{kat/L}$

REFERENČNÍ HODNOTY

M11534i-0310

Reakční teplota	Sérum, plazma		Moč	
	U/L	μ kat/L	U/L	μ kat/L
Do 30°C ¹	25-65	0,41-1,08	-	-
Do 37°C ³	28-100	0,47-1,67	16-491	0,26-8,15

Uvedené hodnoty jsou pouze orientační. Každá laboratoř by si měla stanovit své vlastní srovnávací hodnoty.

KONTROLA KVALITY:

Pro ověření správnosti měření se doporučuje použít biochemické kontrolní sérum hladiny I (kód. 18005 a 18009) a hladiny II (kód. 18007 a 18010).

Každá laboratoř by si měla stanovit svoji vlastní vnitřní kontrolu kvality a postupy pro nápravná jednání, jestliže kontroly nejsou v tolerančním rozpětí.

METROLOGICKÁ CHARAKTERISTIKA

- Detekční limit: 3,0 U/L = 0,05 μ kat/L.
- Linearita: 1300 U/L = 21,6 μ kat/L (sérum a plazma) a 2600 U/L = 43,2 μ kat/L (moč). Při vyšších hodnotách zředte vzorek 1/5 destilovanou vodou a opakujte měření.

- Opakovatelnost (within run):

Sérum. Průměrná koncentrace	CV	n
70 U/L	1,3%	20
666 U/L	0,6%	20

Moč. Průměrná koncentrace	CV	n
460 U/L	0,7%	20
950 U/L	0,6%	20

- Reprodukovatelnost (run to run):

Sérum. Průměrná koncentrace	CV	n
70 U/L	1,9%	25
666 U/L	1,7%	25

Moč. Průměrná koncentrace	CV	n
460 U/L	0,8%	25
950 U/L	1,2%	25

- Citlivost: 0,309 Δ mA·L/U·min = 18,6 Δ mA·L/ μ kat·min.
- Správnost: Výsledky získané touto soupravou nevykazovaly systematické rozdíly při porovnání s referenčními reagenty. Podrobnosti o porovnávací zkoušce jsou k dispozici na vyžádání.
- Interference: Lipemie (triglyceridy 10 g/L) a bilirubin (20 mg/dL) neinterferují. Hemoglobin (10 g/L) interferuje. Některé léky a látky mohou interferovat⁴.

Tyto metrologické charakteristiky byly získány na analyzátoru. Výsledky se mohou lišit při použití různých analyzátorů, nebo při manuální metodě.

DIAGNOSTICKÁ CHARAKTERISTIKA

α -amyláza katalyzuje hydrolýzu α -1,4 karbohydrátových řetězců tvořených α -D-glukosovými jednotkami. Výsledkem jsou slukly dextrinů, maltosy a některé molekuly glukosy. α -amyláza je tvořena hlavně pankreasem (P-typ) a slinotvornými žlázami (S-typ), a také některými dalšími tkáněmi.

Kvantitativní rozbor aktivity α -amylázy v séru a v moči má velký význam při diagnóze onemocnění pankreasu, jako je chronická pankreatitida. Hyperamylasemie také ukazuje na renální nedostatečnost, akutní otravu břicha, nádory plic a vaječnicků, poranění slinotvorných žláz, makroamylasemii, diabetickou ketoacidosu, onemocnění žlučových cest, cerebrální trauma, chronický alkoholismus a zneužívání některých léků nebo drog (opiátů)^{5,6}.

Klinická diagnóza by však neměla být uzavřena jen na základě tohoto výsledku, ale měly by být propojeny klinické a laboratorní výsledky.

POZNÁMKY

- Sliny a pokožka obsahují α -amylázu, proto nikdy nepipetujte ústy a zabraňte kontaktu kůže s reagentem.
- Tento reagent může být použit v různých analyzátoch. Aplicační protokoly jsou k dispozici na: www.jktrading.cz

LITERATURA

- Lorentz K. Approved recommendation on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes part 9. IFCC method for α -amylase (1,4- α -D-glucan 4-glucanohydrolase, EC 3.2.1.1). *Clin Chem Lab Med* 1998;36:185-203.
- Lorentz K. Routine α -amylase assay using protected 4-nitrophenyl-1,4- α -D-maltoheptaoside and a novel α -glucosidase. *Clin Chem* 2000;46:644-649.

KOD 11582 1 x 25 mL	KOD 11534 1 x 40 mL
SKLADOVÁNÍ PŘI 2-8°C	
Reagenty pro měření koncentrace α -amylázy Pouze pro laboratorní <i>in vitro</i> use diagnostiku	



α -AMYLÁZA-EPS



IFCC

3. Junge W, Werner W, Wilke B et al. Development and evaluation of assays for the determination of total and pancreatic amylase at 37 °C according to the principle recommended by the IFCC. *Clin Biochem* 2001;34:607-615.
4. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 1995.
5. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1994.
6. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.

UPOZORNĚNÍ

Překlad pořízen k datu: 20.9.2004

Vzhledem k možné inovaci výrobku Vám doporučujeme překontrolovat český překlad s originálním příbalovým letákem. Více informací naleznete na internetové adrese: www.biosystems-sa.com nebo na adrese výhradního distributora pro ČR: www.jktrading.cz